

【公報種別】特許法第 17 条の 2 の規定による補正の掲載

【部門区分】第 3 部門第 2 区分

【発行日】平成27年1月8日 (2015.1.8)

【公開番号】特開2014-218520(P2014-218520A)

【公開日】平成26年11月20日 (2014.11.20)

【年通号数】公開・登録公報2014-064

【出願番号】特願2014-165961(P2014-165961)

【国際特許分類】

A 6 1 K 9/127 (2006.01)

A 6 1 K 47/24 (2006.01)

A 6 1 K 47/08 (2006.01)

A 6 1 K 47/12 (2006.01)

A 6 1 K 47/14 (2006.01)

A 6 1 K 47/16 (2006.01)

A 6 1 K 47/18 (2006.01)

A 6 1 K 47/22 (2006.01)

A 6 1 K 47/28 (2006.01)

【F I】

A 6 1 K 9/127

A 6 1 K 47/24

A 6 1 K 47/08

A 6 1 K 47/12

A 6 1 K 47/14

A 6 1 K 47/16

A 6 1 K 47/18

A 6 1 K 47/22

A 6 1 K 47/28

【手続補正書】

【提出日】平成26年10月16日 (2014.10.16)

【手続補正 1】

【補正対象書類名】特許請求の範囲

【補正対象項目名】全文

【補正方法】変更

【補正の内容】

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

両性リポソームであって、少なくとも 1 種の正電荷担体と、該正電荷担体と異なる少なくとも 1 種の負電荷担体とを含み、等電点が 4 ~ 8 であり、かつホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、コレステロール、テトラエーテル脂質、セラミド、スフィゴ脂質及び / 又はジアシルグルセロールからなる群より選ばれた中性脂質を含むことを特徴とする両性リポソーム。

【請求項 2】

等電点が 5 ~ 7 である、請求項 1 記載の両性リポソーム。

【請求項 3】

両性リポソームであって、少なくとも 1 種の両性電荷担体を含み、該両性電荷担体が、等電点が 4 ~ 8 を有する両性リポソームであって、前記両性リポソームが、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、コレステロール、テトラエーテル脂質、セラミド、スフィゴ脂質及び / 又はジアシルグルセロールからなる群より選ばれた中性脂質

を含むことを特徴とする両性リボソーム。

【請求項 4】

該両性荷電担体の等電点が、5～7である、請求項 3 に記載の両性リボソーム。

【請求項 5】

両性リボソームであって、等電点が 4～8 である少なくとも 1 種の両性電荷担体と、陰イオン及び / 又は陽イオン電荷担体とを含み、更に、ホスファチジルコリン、ホスファチジリエタノールアミン、コレステロール、テトラエーテル脂質、セラミド、スフィンゴ脂質及び / 又はジアシルグルセロールからなる群より選ばれた中性脂質を含むことを特徴とする両性リボソーム。

【請求項 6】

等電点が 5～7 である、請求項 5 記載の両性リボソーム。

【請求項 7】

平均サイズが 50～1000 nm である、請求項 1～6 のいずれか 1 項に記載の両性リボソーム。

【請求項 8】

有効成分を含む、請求項 1～7 のいずれか 1 項に記載の両性リボソーム。

【請求項 9】

該有効成分が、タンパク質、ペプチド、DNA、RNA、アンチセンスヌクレオチド及び / 又はデコイヌクレオチドである、請求項 8 に記載の両性リボソーム。

【請求項 10】

有効成分の少なくとも 80% が、該リボソームの内部にある、請求項 1～9 のいずれか 1 項に記載の両性リボソーム。

【請求項 11】

請求項 1～10 に記載の有効成分をリボソームに充填する方法であって、封入するために決められた pH が用いられ、結合していない物質を分離するために第二 pH が用いられることを特徴とする方法。

【請求項 12】

請求項 1～10 に記載の有効成分をリボソームに充填する方法であって、該リボソームが決められた pH で透過化処理され閉鎖されることを特徴とする方法。

【請求項 13】

ナノカプセルを製造するための請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載のリボソームの使用。

【請求項 14】

診断における放出システムを製造するための請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載のリボソームの使用。

【請求項 15】

有効成分を運搬及び / 又は放出するための請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載のリボソームの使用。

【請求項 16】

徐放性製剤及び / 又は循環デポとしての請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載のリボソームの使用。

【請求項 17】

静脈内に適用するための請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載のリボソームの使用。

【請求項 18】

細胞の生体内又は生体外トランスフェクション用ベクターとしての請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載のリボソームの使用。

【請求項 19】

細胞の試験管内トランスフェクション用ベクターとしての請求項 1～10 のいずれか 1 項に記載のリボソームの使用。

【手続補正 2】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0015

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0015】

弱陽イオン化合物の例は、His-Chol ヒスタミニル-コレステロールヘミスクシネート、Mo-Chol モルホリン-N-エチルアミノ-コレステロールヘミスクシネート又はヒスチジニル-PEである。

中性化合物の例は、コレステロール、セラミド、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、テトラエーテル脂質又はジアシルグリセロールである。

弱陰イオン化合物の例は、CHEMS コレステロールヘミスクシネート、炭素原子8～25個を有するアルキルカルボン酸又はヘミコハク酸ジアシルグリセロールである。追加の弱陰イオン化合物は、アスパラギン酸、又はグルタミン酸とPE又はPS又はそのアミドのグリシン、アラニン、グルタミン、アスパラギン、セリン、システイン、トレオニン、チロシン、グルタミン酸、アスパラギン酸又は他のアミノ酸又はアミノジカルボン酸によるアミドである。同じ原理に従って、ヒドロキシカルボン酸又はヒドロキシジカルボン酸とPSのエステルも弱陰イオン化合物である。

【手続補正3】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0018

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0018】

本発明は、また、等電点が4～8の間にある少なくとも1種の両性電荷担体を含む両性リボソームに関する。

好適態様においては、リボソームの両性電荷担体の等電点は5～7の間にある。

本発明は、また、少なくとも1種の両性電荷担体と陰イオン及び/又は陽イオン電荷担体とを含む、両性リボソームに関する。

好適態様においては、両性リボソームの等電点は5～7である。

本発明の特別の態様においては、本発明のリボソームは、ホスファチジルコリン、ホスファチジルエタノールアミン、ジアシルグリセロール、コレステロール、テトラエーテル脂質、セラミド、スフィンゴ脂質、及び/又はジアシルグリセロールを含んでいる。しかしながら、リボソームの調製は、本発明の教示の多くの脂質を組合わせて行うことができることは当然のことである。例えば、リボソームは多量のCHEMS（約40%）と少量のDOTAP（約30%）を用いて合成することができる。CHEMSのカルボキシル基のpKにおけるこの成分の負電荷はこれまですでに抑えられ、正電荷担体が全体を支配している。代替的製剤は、CHEMSとHis-Cholとの混合であり、正電荷担体His-Cholの強い荷電が負のCHEMSの放電と相乗作用的に進む。

【手続補正4】

【補正対象書類名】明細書

【補正対象項目名】0019

【補正方法】変更

【補正の内容】

【0019】

それ自体では両性であるHist-Cholが、例えば、ホスファチジルコリンの中性膜内に組込まれる場合には、Hist-Cholにおおむね相当する等電点をもつ両性リボソームが結果として生じる。

本発明の教示の多数の態様によって下記の重要なパラメータがどのように適合し得るかは当業者に既知である。

(i) 用いられる電荷担体の量やpKa値による電荷逆反応の終点におけるリボソームの電

荷密度、

(ii) 絶対量や 2 種の相補的 pH 感受性脂質の最適相乗作用による、2 種の電荷担体比からの電荷逆反応曲線の勾配、

(iii) 2 種の電荷担体の比又は 1 つ又は複数の pK 値の位置に基づくゼータ電位のゼロ通過。